



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on chicken lymphoma : establishment of an immunohistochemical diagnostic method for Marek' s disease and discovery of a novel lymphoma
Author(s)	KUROKAWA, Aoi; 黒川, 葵
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	乙第7232号
Issue Date	2025-12-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.r7232
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98677
Type	doctoral thesis
File Information	Aoi_KUROKAWA_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：黒川 葵

審査委員	主査	教授	今内 覚
	副査	教授	木村 享史
	副査	教授	市居 修
	副査	特任教授	大橋 和彦

学位論文題名

Study on chicken lymphoma:

establishment of an immunohistochemical diagnostic method for Marek's disease
and discovery of a novel lymphoma

（鶏リンパ腫の研究：マレック病の免疫組織化学的診断法の確立と
新規リンパ腫の発見）

鶏リンパ腫は、マレック病（Marek's disease, MD）、鶏白血病、細網内皮症の3種のウイルス性腫瘍に分類される。このうち、MDはマレック病ウイルス（Marek's disease virus, MDV）に起因する、若鶏に多く発生が認められるT細胞性リンパ腫である。MDの腫瘍細胞は $CD3^+CD4^+CD8^-$ Tリンパ球に由来し、MDVに特異的なウイルス抗原であるMDV-EcoRI-Q（Meq）を発現する。Meqの免疫組織化学による検出はMDの診断に有用であるが、ホルマリン固定パラフィン包埋切片に適した高感度かつ高い特異性を持つ抗体の欠如により、免疫組織化学的診断法としての普及は限定的である。現在、MDの診断は組織形態学的解析や $CD3^+$ Tリンパ球由来であることを免疫組織化学により確認することで行われている。しかし、抗CD3抗体は鶏Tリンパ球に対する感度や特異性の検証が不十分なまま使用されることが多いことや、さらにはMDVの関与を直接的に証明することができないため、診断の信頼性には課題が残る。一方、鶏白血病および細網内皮症は主に成鶏に発生するB細胞性リンパ腫であり、それぞれ鶏白血病ウイルス、細網内皮症ウイルスに起因する。鶏Bリンパ球の免疫組織化学的同定法は標準化されていないため、現状において鶏のB細胞性リンパ腫の診断は組織形態学的解析や $CD3^-$ を根拠に行われている。そこで本研究では、鶏リンパ球の免疫組織化学的同定法を確立し、T細胞性またはB細胞性リンパ腫の正確な鑑別法、ならびにMDの高精度な診断法の確立を行った。

第I章では、市販の抗体21種類を用いて、ホルマリン固定後または亜鉛固定後のパラフィン包埋組織における鶏リンパ球への反応性を免疫組織化学により評価した。その結果、Tリンパ球とBリンパ球、さらには5種類のT細胞サブセットが同定可能であった。感度および特異性の点で、とくに抗human CD3抗体(clone F7.2.38)

は T リンパ球, 抗 chicken BAFF-R 抗体 (clone 2C4) は B リンパ球の検出に適した。また, 亜鉛固定パラフィン包埋切片では, ホルマリン固定では検出困難な抗原 (CD4, TCR $\gamma\delta$ および TCR $\alpha V\beta 1$) の検出が可能であった。

第II章では, MD の診断に有用な抗 Meq モノクローナル抗体を作出した。バキュロウイルス発現系を用いて Meq 抗原を作製し, マウスへの免疫により 14 種類の抗 Meq モノクローナル抗体を得た。そのうち 6 種類が, MD 由来細胞株および MDV 感染鶏由来組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片で Meq の検出が可能であった。国内で収集した 104 検体の鶏リンパ腫を対象に Meq の検出を実施したところ, 各モノクローナル抗体の単独使用による Meq 陽性症例が 76~88%であったのに対し, 3 種類のモノクローナル抗体を混合したカクテル抗体では 99%の陽性率を示し, より高精度な MD の診断を可能とした。この結果は, 組織形態学的解析のみでは鶏リンパ腫の診断には限界があり, 免疫組織化学的解析の重要性を裏付けている。

第III章では, これまでの報告とは異なる鶏の新規リンパ腫を発見した。本リンパ腫は, 国内の 1 歳以上の複数品種の鶏において合計 23 症例確認され, 既知のリンパ腫とは肉眼的な鑑別は困難であったが, 組織形態学的特徴が異なっており, 小型で均一な腫瘍細胞で構成されていた。免疫表現型解析の結果, 本リンパ腫は CD3⁺CD4⁻CD8⁺ T リンパ球に由来し, Meq の発現は認められなかった。さらに, PCR 法と *in situ* hybridization 法で *meq* 遺伝子は検出されず, 本リンパ腫は MD とは異なる疾病であると推定された。加えて, 鶏に腫瘍を誘発する鶏白血病ウイルス, 細網内皮症ウイルスおよび牛伝染性リンパ腫ウイルスの関与も免疫組織化学と PCR により否定された。疫学的解析では, 新規リンパ腫の発生率は 0.016%であり, MD と誤診されている可能性がある。そのため, CD8⁺Meq⁻の表現型の確認による新規リンパ腫の診断が, 正確なリンパ腫の診断には重要と考えられる。

本研究により, 鶏リンパ球の免疫組織化学的同定法が確立され, T 細胞性または B 細胞性リンパ腫の正確な鑑別が可能となった。また, MD の高精度な診断法の確立により, その効果的な制御への貢献が期待される。さらに, この診断技術は新規疾患の発見にもつながり, 鶏の T 細胞性リンパ腫に関する再定義の必要性を示した。よって, 審査委員一同は, 上記学位論文提出者黒川葵氏が博士 (獣医学) の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。